

## ⑪ 公開特許公報 (A) 昭60-172292

⑥Int.Cl. <sup>1</sup>	識別記号	序内整理番号	⑩公開 昭和60年(1985)9月5日
C 12 P 13/04		8213-4B	
C 07 B 55/00		7457-4H	
/(C 12 P 13/04			
C 12 R 11:38)		6760-4B	
(C 12 P 13/04		6760-4B	審査請求 未請求 発明の数 1 (全3頁)
C 12 R 1:01)			

⑪発明の名称 ホモシステインのラセミ化方法

⑪特 願 昭59-26935

⑪出 願 昭59(1984)2月17日

⑫発明者 中村 武史 逗子市久木4-10-8

⑫発明者 左右田 健次 宇治市木幡御歳山45-61

⑫発明者 田中 英彦 京都市伏見区日野慈悲町21-10

⑫発明者 牧口 信義 藤沢市本鶴沼2-12-23

⑪出願人 三井東圧化学株式会社 東京都千代田区霞が関3丁目2番5号

## 明細書

## 1. 発明の名称

ホモシステインのラセミ化方法

## 2. 特許請求の範囲

ショードモナス属またはアエロモナス属に属する菌株を培養し、その培養物またはその培養物から分離した培養菌体またはその培養菌体からの抽出物の存在下で、ホモシステインをラセミ化することを特徴とするホモシステインのラセミ化方法。

## 3. 発明の詳細な説明

本発明は、ホモシステインをラセミ化する方法に關し、更に詳しくは、ショードモナス (*Pseudomonas*) 属またはアエロモナス (*Aeromonas*) 属に属する菌株を培養し、その培養物またはその培養物から分離した培養菌体またはその培養菌体からの抽出物の存在下で、ホモシステインをラセミ化する方法に関する。

ホモシステインは、L-システィンまたはL-メチオニン合成用の原料として使用される。

ホモシステインは分子中に不斉炭素1個を保有するアミノ酸であり、L型およびD型が存在する。発酵法および酵素法で得られるホモシステインは通常L型であり、合成法で得られるホモシステインは通常DL型である。必要に応じてホモシステインを光学分割とラセミ化の繰り返しによって、D-ホモシステインからL-ホモシステインまたはL-ホモシステインからD-ホモシステインに変換し得る。

従来ホモシステインのラセミ化方法としては、ホモシステインの水溶液を高温高圧処理する方法が知られているが、この方法は次のような欠点を有する。即ち、(1)高圧加熱操作を必要とするためにラセミ化に多量のエネルギーを必要とする。(2)共存する他のアミノ酸もラセミ化する。例えば、D-ホモシステインとL-システィンの混合液の場合、D-ホモシステインのみならず、L-システィンをもラセミ化する。(3)共存する酵素をも失活させる。例えば、シスタチオニジβ-シンターゼとアーチスタチオナーゼの存在下、DL-ホモ

システィンからL-システィンを製造する工程において、未反応のD-ホモシスティンをこの方法でラセミ化処理すると、生成したL-システィンをラセミ化するのみならず、反応を触媒する酵素をも失活させる。

本発明者らは、前記の欠点のないラセミ化方法を種々検討した結果、シードモナス属またはアエロモナス属に属するある菌株の培養物またはその培養物から分離した培養菌体、またはその培養菌体からの抽出物の存在下で、ホモシスティンがラセミ化することを見出し、その発見に基づいて本発明を完成させた。

本発明の実施には、シードモナス属またはアエロモナス属に属する多くの菌株が用いられ、例えば、後述の実施例に示したように、シードモナス・ブチダ (*Pseudomonas putida*) IPO 12996、アエロモナス・ブンクタータ・サブスピーシーズ・キャビエ (*Aeromonas punctata* subspecies *caviae*) MT-10243 (PERM BP-21) などが用いられる。

酸第二水素カリウム、塩化カリウム、塩化ナトリウム、硫酸マグネシウム、硫酸第一鉄なども必要に応じて使用すると好都合である。

本発明に使用する酵素源としては、微生物の培養物そのまま、または、培養液から遠心分離などの方法により採取した生菌体、その乾燥菌体あるいは菌体を破碎、自己消化、超音波処理などの処理により得られた菌体処理物、更にはこれらの菌体よりの抽出物並びに該抽出物より得られる酵素の粗製物が利用可能である。勿論、これらの固定化酵素または固定化菌体でもよい。

ホモシスティンのラセミ化反応は、水溶液中で行なわれるが、ホモシスティンの濃度には特に制限はない。

反応温度は20～50℃、反応液のpHは5～10の範囲内が好適である。

次に実施例により本発明を説明するが、実施例におけるホモシスティンのラセミ化の程度は、旋光度および液体クロマトグラフィーでD体、L体を分離定量することにより行なつた。なお、多くは

これら微生物の培養は、通常、振盪培養あるいは通気搅拌深部培養などの好気的条件下で行なう。培養温度は、20～50℃であり、培養中の培地のpHは、中性または微アルカリ性附近に維持することが望ましい。培養期間は、通常、1～3日間である。

培地に使用する炭素源および窒素源は、使用菌の利用可能なものならば何れの種類を用いてもよい。即ち、炭素源としては、グルコース、グリセロール、フラクトース、シュクロース、澱粉加水分解液、蜂蜜などの種々の炭水化物が使用できる。窒素源としては、アンモニア、塩化アンモニウム、硫酸アンモニウム、炭酸アンモニウム、酢酸アンモニウムなどの各種の無機および有機アンモニウム塩類、または肉エキス、酵母エキス、コーン・ステーブ・リカー、カゼイン加水分解物、フィッシュミールあるいはその消化物などの天然有機窒素源が使用可能である。天然有機窒素源の多くの場合は、窒素源であるとともに炭素源にもなり得る。更に無機物として磷酸第一水素カリウム、磷酸第二水素カリウム、塩化カリウム、塩化ナトリウム、硫酸マグネシウム、硫酸第一鉄なども必要に応じて使用すると好都合である。

全て重量%で示した。

#### 実施例1

シードモナス・ブチダ IPO 12996 を次の組成の培地 50 ml を入れた坂口フラスコに一白金耳接種し、30℃で24時間振盪培養した。

培地組成	肉エキス	1.0%
	ペプトン	0.5%
	酵母エキス	0.1%

初期 pH 7.0

培養液 1 l を遠心分離して、菌体を集め次のラセミ化反応に供した。L-ホモシスティン 6.9、ビリドキサール磷酸 1.0 mg、1,4-ジチオスレート・ール 100 mg、ピロリン酸ナトリウム 1.3 g を含む水溶液 100 ml に培養液 1 l 分から得られた遠心菌体を加え、密閉シール中でゆるやかに搅拌しながら、37℃で48時間反応を行なつた。反応後に分析を行なつたところ、反応液中にはL-ホモシスティン 3.2 g、D-ホモシスティン 2.7 g が含まれていた。

#### 実施例2

実施例1のL-ホモシスティンの代りに、D-ホモシスティンを用いて同様に試験した。反応液を分析した結果、D-ホモシスティン5.3g、L-ホモシスティン2.5gが含まれていた。

実施例3

実施例1のシュードモナス・ブチダIFO 12996の代りに、アエロモナス・ブンクタータ・サブスピーシーズ・キャビエMT-10243（微研条寄第21号）を用いて同様に試験した。反応液を分析した結果、L-ホモシスティン3.1g、D-ホモシスティン2.8gが含まれていた。

実施例4

実施例3のL-ホモシスティンの代りに、D-ホモシスティンを用いて同様に試験した。反応液を分析した結果、D-ホモシスティン3.0g、L-ホモシスティン2.9gが含まれていた。

特許出願人

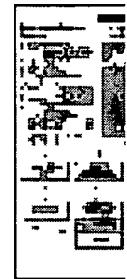
三井東庄化学株式会社

46699-2001

**DELPHION****RESEARCH****PRODUCTS****INSIDE DELPHION**[Log Out](#) [Work Files](#) [Saved Searches](#)[My Account](#)

Search: Quick/Number Boolean Advanced Der

## The Delphion Integrated View

Get Now:  PDF | [File History](#) | [Other choices](#)Tools: Add to Work File:  [Create new Work](#)View: INPADOC | Jump to: [Top](#)Go to: [Derwent](#)[Email](#)**>Title: JP60172292A2: METHOD OF RACEMIZATION OF HOMOCYSTEINE****Derwent Title:** Racemisation of homocysteine - using culture of Aeromonas Pseudomonas strain [\[Derwent Record\]](#)**Country:** JP Japan**Kind:** A**Inventor:** NAKAMURA TAKESHI;  
SODA KENJI;  
TANAKA HIDEHIKO;  
MAKIGUCHI NOBUYOSHI;**Assignee:** MITSUI TOATSU CHEM INC  
[News, Profiles, Stocks and More about this company](#)**Published / Filed:** 1985-09-05 / 1984-02-17**Application Number:** JP1984000026935**IPC Code:** Advanced: **C07B 55/00; C12P 13/04; C12R 1/01; C12R 1/38;**  
Core: **C12P 13/00;** more...  
IPC-7: **C07B 55/00; C12P 13/04;****Priority Number:** 1984-02-17 JP1984000026935**Abstract:** PURPOSE: To racemize the titled compound useful for synthesizing L-cysteine, etc. under mild conditions without racemizing other amino acids, by cultivating a strain belonging to the genus Pseudomonas, treating homocysteine in the presence of the culture or cultivated mold.

CONSTITUTION: A strain belonging to the genus Pseudomonas (e.g., Pseudomonas putida IFO 12996, etc.) or to the genus Aeromonas (e.g., Aeromonas punctata subspecies caviae MT-10243, etc.) is cultivated, and in the presence of the culture or a bacterial cell separated from the culture or an extract obtained from the bacterial cell, homocysteine is treated with an aqueous solution containing pyridoxal phosphate, 1,4-dithiothreitol, and sodium pyrophosphate, to racemize homocysteine.

COPYRIGHT: (C)1985,JPO&amp;Japio

**Family:** None**Other Abstract Info:** CHEMABS 104(05)033046P CAN104(05)033046P[Nominate this for the Gallery...](#)**BEST AVAILABLE COPY**



THOMSON  
★

Copyright © 1997-2006 The Tho

[Subscriptions](#) | [Web Seminars](#) | [Privacy](#) | [Terms & Conditions](#) | [Site Map](#) | [Contact U](#)

BEST AVAILABLE COPY